Aus dem Institut für
Parasitologie und Tropenveterinärmedizin
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

MASTZELLZUSÄTZE SENSIBILISIERTER RATTEN ZU IN VITRO-KULTUREN VON NIPPOSTRONGYLUS BRASILIENSIS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Bernd Zander
Tierarzt aus Aue
Berlin 1974
Journal Nr. 839

Aus dem Institut für
Parasitologie und Tropenveterinärmedizin
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

MASTZELLZUSÄTZE SENSIBILISIERTER RATTEN ZU IN VITRO-KULTUREN VON NIPPOSTRONGYLUS BRASILIENSIS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Bernd Zander
Tierarzt aus Aue
Berlin 1974
Journal Nr. 839

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Vorsitzender: Prof. Dr. H.-J. Sinell
Referent : Prof. Dr. F. Hörchner
Correferent : Prof. Dr. H. G. Hilliger

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der Promotion: 26.4.1974

Meinen lieben Eltern

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Immunreaktionen gegen Nippostrongylus brasiliensis bei der Ratte (anhand der Literatur)	2
2.1	Entwicklungszyklus von Nippostrongylus brasiliensis	2
2.2	Entwicklung der humoralen Abwehr	3
2.3	Entwicklung der zellulären Abwehr	6
2.4	Wirkung der Immunabwehr auf Nippostrongylus	7
3.	Eigene Untersuchungen	
3.1	Material und Methodik	11
3.2	Ergebnisse	18
4.	Besprechung der Ergebnisse	26
5.	Zusammenfassung und Summary	30
6.	Literaturverzeichnis	32
7.	Anhang	38
	Lebenslauf	

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546521_0075

1. Einleitung

Das Selbstreinigungsphänomen, eine Immunreaktion gegen Rundwurminfektion im Magen-Darmkanal, ist seit langem bekannt.

Erst in den letzten Jahren wurden allerdings Einzelheiten der Wirkungsweise dieser Abwehrreaktion am Modell Ratte - Nippostrongylus erarbeitet.

Für den Reaktionsablauf des Wurmausstoßes werden einmal die verschiedenen Globulinfraktionen im Blutserum sensibilisierter Tiere, zum anderen zelluläre Bestandteile verantwortlich gemacht.
Da der Ablauf des Abwehrmechanismus des Wirtstieres gegenüber einer Nippostrongylus-Infektion sehr komplexer Natur bleibt, ist eine Klärung dieser Vorgänge in vivo sehr schwierig.
Mit der Möglichkeit, Nippostrongylus brasiliensis in vitro zu züchten, lassen sich aber Einzelkomponenten des vom Wirtskörper produzierten Immunkomplexes zu den Kulturmedien hinzufügen.

Meine Aufgabe bestand darin, die Einwirkung von Mastzellen sensibilisierter Ratten auf die in Nährmedien gehaltenen Nippostrongylus zu überprüfen.

2. Immunreaktion gegen Nippostrongylus brasiliensis bei der Ratte (anhand der Literatur)

2.1 Entwicklungszyklus von Nippostrongylus brasiliensis

Der spezifische Hauptwirt von Nippostrongylus brasiliensis (Travassos, 1914) ist die Wanderratte, Rattus norwegicus. Natürliche Infektionen kommen auch in der Rattus rattus und der Mus musculus vor (HALEY, 1961).
Nach HALEY (1962) scheidet das Wirtstier Wurmeier mit den Faeces aus, die bei Temperaturen von 22 - 30° C bereits nach 20 - 24 Stunden embryonieren. Nach einer 4-5tägigen Entwicklung in der Außenwelt ist die teilweise entscheidete Larve infektionstüchtig und dringt als filariforme La. III percutan in den Wirt ein, um nach 15 Stunden in der Lunge zu erscheinen. Es konnte bisher noch nicht eindeutig geklärt werden, ob die Larven nach der percutanen Infektion über den Lymphweg (GHARIB, 1961), über die Lymph- und Blutbahn (CLARKE, 1967) oder nur über die Blutbahn in die Lungen gelangen. In der Lunge finden die 3. Häutung und eine Geschlechtsdifferenzierung statt. Ungefähr 59 Stunden p.i. gelangt die La. IV über die Trachealpassage und den Magen in den Dünndarm, wo ein rasches Wachstum und die letzte Häutung stattfinden. Nach 137 Stunden enthalten fast alle Weibchen befruchtete Eier und beginnen 6 Tage p.i. mit der Eiablage. Die Patenz dauert nur wenige Wochen bis zu einigen Monaten, denn die Mehrzahl der Würmer wird bis auf eine verbleibende Schwellenpopulation nach einmaliger Infektion während der 2. und 3. Woche p.i. ausgestoßen. Die Angehensraten nach mehrmaligen Infektionen sind wesentlich geringer. Die Größe des jeweiligen Wurmverlustes steht in Beziehung zur Menge der anfänglichen Wurmpopulation im Dünndarm. Nach HALEY (1962) kann eine Dosis experimentalis von 50 - 3.000 Larven gegeben werden. Die sich daraus entwickelnden Adulten im Dünndarm lagen jeweils bei 55 %. Ratten tolerieren eine weite Spanne von larvalen Infektionsdosen. Die Letaldosis hängt von der Größe der verwendeten Tiere ab. Bei Adulten (200 - 400 g) liegt die LD_{50} bei ca. 10.000 - 20.000 Larven (HUNTER u. LEIGH, 1961).

2.2 Entwicklung der humoralen Abwehr

Der Ablauf des Immunitätsgeschehens beginnt mit der Stimulation des Abwehrsystems durch die Antigene. Eine Vielfalt antigenen Materials wird während der Entwicklung des Wurms durch seinen Stoffwechsel freigesetzt. THORSON (1954), OGILVIE (1964) stellten fest, daß die Exkretionen und Sekretionen der Larven schon während ihrer Gewebswanderung eine Quelle der Antigene ausmachen. Jedoch dürften ohne jeden Zweifel erst die Adulten die Hauptquelle der Antigen-Produktion darstellen (OGILVIE, 1965). So wurde in vitro aus Stoffwechselprodukten adulter Würmer ein Antigen, und zwar ein Allergen, nachgewiesen, das ein Molekulargewicht von 12.000 - 17.000 erreicht und die Bildung von Antikörpern vom Reagintyp und blockierenden Antikörpern stimuliert (JONES u. OGILVIE, 1967 a; WILSON, 1967; HOGARTH-SCOTT, 1967). Antigene, die mit Antikörpern aus dem Serum infizierter Ratten präzipitierten, wurden an den Körperöffnungen lebender infektiöser Larven und an Adulten festgestellt (JACKSON, 1960; OGILVIE, 1964; WILSON, 1967).

Die Funktion des bei Nippostrongylus gefundenen Enzyms Acetylcholinesterase als Antigen konnte noch nicht eindeutig nachgewiesen werden, jedoch vermuten EDWARDS u. Mitarb. (1971), daß es die Wirtsimmunität stimuliert. Es ist bisher nur bekannt, daß dieses Enzym bei adulten Würmern, im Gegensatz zu Eiern und Larvenstadien, eine extrem hohe Konzentration erreicht, die bei immunitätsgeschädigten Adulten noch höher steigt (SANDERSON u. OGILVIE, 1971).

Während einer einmaligen bzw. Zweitinfektion mit Nippostrongylus kommt es bei der Ratte zu einem Ansteigen spezifischer Antikörper im Serum, das sich nach Mehrfachinfektion jedoch wesentlich potenziert. Hauptsächlich kommt es 20 Tage nach einer Erstinfektion mit Nippostrongylus zu einem Anstieg des IgG. Es scheint eine größere Rolle im Ablauf der aktiven Immunität zu spielen. Ein weiteres Immunoglobulin, das IgA, wurde nach Nippostrongylus-Infektionen sowohl im Serum als auch im Darm festgestellt. Seine Funktion als schützender Antikörper konnte nicht nachgewiesen werden. Auch dem IgM kommt eine schützende Funktion gegen Nippostrongylus-Infektionen zu. Es stellt jedoch nicht die Hauptquelle schützender Antikörper im Immunserum dar (JONES u. Mitarb., 1970).

Die Reagine, auch homozytotrope Antikörper genannt, gehören auch bei der Ratte zur Immunoglobulinklasse IgE, die ebenfalls von Plasmazellen gebildet wird. Nach BLOCH (1967), OGILVIE u. JONES (1969) sind die Reagine der Ratte physicochemisch identisch mit den menschlichen Reaginen. Sie haben die gleiche Antigenspezifität wie die blockierenden Antikörper, aber außerdem noch anaphylaktische Eigenschaften.
Die aus bestimmten Antigen-Antikörper (Reagine)-Reaktionen freigesetzten anaphylaktischen Reizstoffe können den Organismus in bestimmten Fällen zu heftigen Überempfindlichkeitserscheinungen veranlassen. Diese spezifische Umstimmung, eine anaphylaktische Reaktion, führt zu starken Gefäß- und Gewebsschädigungen. Die für diese Überempfindlichkeitsreaktionen vom Sofort-Typ (Arthus-Phänomen) verantwortlichen Antikörper sind diese Reagine. Die anaphylaktischen Reaktionen können lokal in der Haut produziert werden, denn die Reagine wirken hautsensibilisierend. Ein charakteristischer Anstieg wurde bisher bei den verschiedensten Nematoden-Infektionen beobachtet (OGILVIE u. JONES, 1969). Die cytophilen Antikörper heften sich auch an die Mastzellenoberfläche, und nach einer Reaktion mit einem adsorbierten Antigen degranuliert die Mastzelle. Aus diesen Granula werden biologisch aktive Stoffe, wie Histamin, Serotonin, Bradykinin und die"slow reacting substance"(SRS-A) freigesetzt, die wiederum für die Gewebsveränderungen verantwortlich sind. Reagine wurden nach Nippostrongylusinfektionen in Ratten von WILSON u. BLOCH (1968) am 9. Tag p.i. auf Peritonealmastzellen festgestellt, von KELLER (1970 a) jedoch nicht vor dem 14. Tag. Noch 7 Monate nach einer einmaligen Infektion konnten sie von OGILVIE (1967) im Rattenserum nachgewiesen werden.

Immunoglobuline zirkulieren nach Ausschleusung aus den Plasmazellen in der Blutbahn (Plasma) und scheinen auch gegen Nippostrongylus-Infektionen eine gewisse Abwehrfunktion zu besitzen. So gelang es NEILSON (1965) mit Antiserum von Ratten, die nur mit Adulten infiziert waren, bei Empfängertieren passiv eine Immunität gegen Nippostrongylus-Infektionen zu erzeugen. OGILVIE u. JONES (1968) gelangten zu extrem unterschiedlichen Ergebnissen. Von 40 Immunseren, jedes aus 30 - 100 Ratten gewonnen, die vorher mindestens 2 mal infiziert wurden, schützten nur 12.

Eine passive Übertragung der Immunität gegenüber der Wurminfektion gelang auch bei neugeborenen Ratten durch Saugen an immunen Müttern ebenso gut wie durch Injektion mit Antiserum (JONES u. OGILVIE, 1967 b).
Zur Frage, ob Reagine bzw. ihre anaphylaktische Aktivität an der Abwehr von Nippostrongylus beteiligt wären, stellten JONES u. Mitarb. (1970) eine reaginfreie Antiserum-Fraktion her, die passiv bei Empfängern gegen den Parasiten schützte und frei von jeder anaphylaktischen Aktivität war. Es läßt sich daraus der Schluß ziehen, daß die Reagine nicht für die passive Immunität erforderlich sind, jedoch wichtige Komponenten der aktiven Immunität sind (OGILVIE u. JONES, 1971).

Histopathologisch beschäftigte man sich in den letzten Jahren vor allem mit den in der humoralen Abwehr mitwirkenden Mastzellen und den "globule" Leukozyten, für die große Granulaeinschlüsse im Cytoplasma charakteristisch sind. Es wurde vermutet, daß "globule" Leukozyten modifizierte Plasmazellen seien (WHUR u. JOHNSON, 1967). Diese Ansicht konnte nicht aufrechterhalten werden, da mittels der Immunofluoreszenz keine Immunoglobuline in den "globule" Leukozyten gefunden wurden (WHUR u. WHITE, 1970). MILLER u. Mitarb. (1967) und JARRETT u. Mitarb. (1967) sind im Gegensatz zu WHUR (1966) der Ansicht, daß die "globule" Leukozyten von den subepithelialen Mastzellen abstammen.
Man ist sich darin einig, daß sowohl die Mastzellen als auch die "globule" Leukozytenzahlen während einer Nippostrongylus-Infektion erheblich ansteigen. Über den Zeitpunkt der Zellzunahme bestehen verschiedene Ansichten.
WELLS (1962) prüfte bestimmte Abschnitte im Duodenum und Ileum und entdeckte in der Schleimhaut einen Anstieg von Mastzellen nicht vor dem 15. bis 20. Tag (p.i.), während die Würmer bereits vom 12. Tag an abgingen und zu diesem Zeitpunkt noch wenige Mastzellen nachweisbar waren (KELLER, 1971).
JARRETT u. Mitarb. (1967) unterschieden zwischen Mastzellen und "globule" Leukozyten und fanden, daß die Zellzahlen beider Zellarten dort, wo die Würmer gefunden wurden, während der ersten 3 Tage der Infektion fielen und bis zum 10. Tag sehr niedrig blieben. Ein enormer Anstieg wurde ab 12. Tag festgestellt, als die Würmer ausgestoßen wurden.
Nach den Untersuchungen von MILLER u. JARRETT (1971) differenzierte sich kurz vor dem Wurmausstoß eine neue Mastzellpopulation,

aus der dann die "globule" Leukozyten hervorgingen. Sie fanden während des Wurmausstoßes, 14 Tage nach einer Nippostrongylus-Infektion, die Höchstzahl an Mastzellen, die zu den "globule" Leukozyten im Verhältnis 1:1 stand.

2.3 Entwicklung der zellulären Abwehr

Neben der Stimulierung der Produktion von humoralen Antikörpern vom Charakter der Immunoglobuline gibt es spezifische Antigene, welche die Proliferation immunkompetenter Zellpopulationen (T-Zellen) anregen. Diese Zellen sind nach ihrer Sensibilisierung für die verzögerte Immunreaktion (Spättyp) oder die zellgebundene Immunität zuständig.
Es wurde versucht, die Immunität mit Lymphozytenzellen sensibilisierter Tiere zu übertragen. KASSAI u. SZEPES (1970) versuchten vergeblich, mit Milz- und Lymphknotenzellen 1 - 3 mal Nippostrongylus-infizierter Ratten eine Immunabwehr auf isologe Empfänger zu übertragen. Jedoch gelang es, die Immunantwort gegen die Wurminfektion bei Mäusen zu unterdrücken, wenn die Tiere mit Antilymphozyten-Serum vorbehandelt waren (KASSAI u. Mitarb., 1968). OGILVIE u. JONES (1968) versuchten die Übertragung der passiven Immunität mit Zellen, gewonnen aus den Mesenteriallymphknoten, der Peritonealhöhle und der Milz von Nippostrongylus infizierten Ratten. Nur in 3 von 11 Experimenten konnten sie eine Immunabwehr in Form des Wurmausstoßes erzeugen. Dieser lag allerdings 2 bis 3 Tage vor dem Termin, an dem die aktive Immunität die Würmer ausgestoßen hätte. KELLER u. KEIST (1972) verhinderten erfolgreich den Wurmausstoß bei bestrahlten Ratten und in adulten, thymektomierten Ratten, die zusätzlich mit Anti-Thymus-Serum behandelt worden waren. In beiden Fällen konnte der Wurmausstoß durch Gaben isologer Mesenteriallymphknotenzellen von nicht infizierten Ratten wieder hergestellt werden. Laktierende Ratten stoßen die Würmer nur aus, wenn ihnen Mesenteriallymphknotenzellen von immunen nicht laktierenden Ratten gegeben wurden. Es wurde vermutet, daß die Lymphozyten laktierender Ratten nicht voll funktionsfähig sind.
Bei Ratten, die als Neugeborene thymektomiert wurden, kommt es im Verlauf einer späteren Nippostrongylus-Infektion nur zu einem verzögerten oder keinem Wurmausstoß. Daraus wird gefolgert,

daß der wirksame Abwehrmechanismus gegen die Wurminfektion eindeutig thymusabhängig ist und damit der Immunität vom verzögerten Typ zugesprochen werden kann (OGILVIE u. JONES, 1967; WILSON u. Mitarb., 1967).

2.4 Wirkung der Immunabwehr auf Nippostrongylus

Bei Ratten mit einer einmaligen Nippostrongylus-Infektion entwickelt sich zunächst die Adultenpopulation im Darm. Strukturelle Veränderungen, die bei den Weibchen auch eine Abnahme der Reproduktionsrate hervorrufen, werden sichtbar, bevor die Würmer ausgetrieben werden. Der Wurmausstoß geschieht bis auf eine geringe "Schwellenpopulation" kurz danach am Ende der 2. Woche (OGILVIE u. HOCKLEY, 1968). Deutliche Schäden zeigen diese Würmer in Form von großen Lipidtropfeinlagerungen in den Intestinalzellen (LEE, 1969). Derartige Schäden konnten verhindert werden, wenn adulte Nippostrongylus alle 4 Tage auf vorher nicht infizierte Ratten passagiert wurden (OGILVIE u. HOCKLEY, 1968). Nach JONES u. OGILVIE (1971) sind jedoch nicht die schweren Schäden in den Darmzellen der Würmer für den Wurmausstoß verantwortlich, da sie in infizierten neugeborenen Ratten, die noch nicht immunkompetent sind, ähnlich veränderte Würmer fanden.
JARRETT u. Mitarb. (1968) untersuchten den Wurmausstoß zwei- und dreimal infizierter Ratten und kamen zu dem Ergebnis, daß der Ablauf des Adultenausstoßes sich in verschiedenen Phasen vollzieht. Es wurden jedoch nach Zweit- und Drittinfektionen bereits Larven während der Lungenpassage zum Darm zerstört, und die Adulten verblieben nicht mehr so lange im Darm wie nach der Erstinfektion. Der Wurmausstoß war also größer, aber eine Schwellenpopulation verblieb wie nach einer Erstinfektion.
Nach OGILVIE (1965) zeigten Ratten, denen nach der Selbstreinigung ein Anthelminthicum verabreicht wurde, um die verbliebene Schwellenpopulation ebenfalls zu eliminieren, nach 2 Monaten noch gegenüber Belastungsinfektionen eine gute Immunität, die erst nach 7 Monaten abnahm. Die Schwellenpopulation ist also zur Aufrechterhaltung der Immunität nur begrenzt notwendig.
Die Würmer der Schwellenpopulation nach einer ersten Infektion

verbleiben nicht auf Grund einer Selektion im Duodenum, sondern sind auf Dauer durch die Immunität geschädigt (OGILVIE u. HOCKLEY, 1968). Sie unterscheiden sich durch ihre Intestinalzelleinlagerungen LEE (1969) stark von normalen Würmern, die man 6 bis 9 Tage p.i., also kurz vor dem Eintritt der Immunität findet. Eine dritte Gruppe sind die adaptierten Würmer: Die Larvalstadien einer zweiten Infektion, die sich in bereits immunen Ratten entwickeln, verändern sich stark unter dem Einfluß der Immunität während ihrer Wanderung. Die aus ihnen hervorgehenden Adulten haben sich adaptiert.

URQUHART u. Mitarb. (1965) nahmen an, daß der Wurmausstoß durch Anaphylaxie ausgelöst wird. Auch BARTH u. Mitarb. (1966), JARRETT u. Mitarb. (1967) sahen diesen Vorgang in zwei Stufen ablaufen. Hiernach soll eine lokale anaphylaktische Reaktion die Durchlässigkeit der Darmmukosa bei den Ratten erhöhen, damit schützende Antikörper schnell in das Intestinallumen gelangen können, um auf die Würmer so einzuwirken, daß sie ausgestoßen werden.
ORANGE u. Mitarb. (1970) sind ebenfalls der Meinung, daß die bei Zerfall von Mastzellen sensibilisierter Tiere freigesetzten Reizstoffe (Histamin, Serotonin, Bradykinin, SRS-A) an mukösen Oberflächen für die erhöhte Permeabilität des Gewebes verantwortlich sind. Sie vermuten, daß diese Stoffe den schnellen Ortswechsel von schützenden Antikörpern vereinfachen.
JARRETT u. Mitarb. (1967) sahen nicht nur in einer anaphylaktischen Reaktion die einzige Möglichkeit, um Antikörpern den Weg in das Intestinallumen zu erleichtern. Sie entdeckten, daß vasculäre Spalten in den Kapillaren der Darmwand auftraten, die durch permeabilitätsinduzierende Faktoren der Würmer hervorgerufen wurden.
Um die Hypothese zu stützen, daß die Aminfreisetzung bei der aktiven Immunität am Wurmausstoß beteiligt ist, verwendete man chemische Stoffe, die entweder die Mastzellfunktion hemmen oder eine Histaminwirkung verhindern sollten. So benutzten URQUHART u. Mitarb. (1965) Promethazin, SHARP u. JARRETT (1968) Reserpin und KELLER (1970) den Histaminliberator 48/80. Es konnten jedoch keine klaren und eindeutigen Schlüsse gezogen werden. Wenn also pharmakologisch aktive Amine am Wurmausstoß beteiligt sind,

wie es JONES u. OGILVIE (1971) feststellten, so setzen sie wahrscheinlich erst in der 2. Phase des Ausstoßes unter Vermittlung von Zellen ein, wie es die Ergebnisse von KELLER u. KEIST (1972), DINEEN u. Mitarb. (1973) zeigten.
KELLY u. OGILVIE (1972) sind der Auffassung, daß es bisher keinen Beweis gibt, die Freisetzung von Histamin durch Degranulation von Intestinalmastzellen bzw. Eosiniphilen mit dem Wurmausstoß in Verbindung zu bringen, wie es MURRAY u. Mitarb. (1971) vermuteten.
WELLS (1971) zog aus seinen Versuchen die Schlußfolgerung, daß anaphylaktische Reaktionen beim Wurmausstoß keine große Rolle spielen, da Mastzelldegranulationen kontinuierlich während einer Infektion ablaufen, hervorgerufen durch die von den wandernden Larven abgegebenen Stoffwechselprodukte.
Zwar wirken nach JONES u. OGILVIE (1971) zuerst Antikörper auf die Würmer ein, für den Ausstoß aber, auch wenn eine passive Übertragung der Immunität gelang, sind unspezifische Faktoren verantwortlich. Die Autoren vermuten, daß die beteiligten Komponenten mit einem entzündlichen Prozeß verbunden sind und sie gewöhnlich in normalen Ratten gegenwärtig sind.
Dieser Schluß war falsch, wie KELLER u. KEIST (1972) zeigten. JONES u. OGILVIE (1971) kamen nur deshalb zu dieser Aussage, weil sie nicht fähig waren, bei den mit Antilymphozytenserum behandelten Ratten den Wurmausstoß von geschädigten Würmern zu verhindern, und somit eine Funktion der Lymphozyten beim Wurmausstoß ausklammern konnten. Vielleicht liegt der Grund, daß sie den Wurmausstoß nicht verhindern konnten darin, daß in den Ratten thymusabhängige Zellen in genügender Zahl vom Gewebe erneuert werden können, wenn nicht zusätzlich zu ALS-Injektionen die Thymusdrüse operativ entfernt wird, wie es KELLER u. KEIST (1972) taten und mit Erfolg den Wurmausstoß unterbanden. DINEEN u. Mitarb. (1973) schließen sich der Erklärung des Wurmausstoßmechanismus von KELLER u. KEIST (1972) an. Danach verursachen sensibilisierte Lymphozyten den Wurmausstoß, nachdem die Würmer vorher durch Antikörper geschädigt wurden. Die letztgenannten Autoren konnten jedoch den Wurmausstoß nicht mit Zellpopulationen induzieren, die reich an Makrophagen und Peritonealzellen waren.

LARSH u. Mitarb. (1969) übertrugen Milzzellen von mit Trichinella spiralis sensibilisierten Spendern auf Mäuse und erreichten damit ebenfalls eine Immunitätsausbildung mit einem Wurmausstoß. Keine Wirkung dagegen zeigte die Übertragung von durch "Gefrieren - Auftauen" abgetöteten Milzzellen (LARSH u. Mitarb., 1970).
DINEEN u. WAGLAND (1966) gelang die Immunitätsübertragung gegen Trichostrongylus colubriformis bei Meerschweinchen am wirkungsvollsten mit Zellen der Mesenteriallymphknoten, jedoch nicht mit Immunserum. Ein direkter Kontakt zwischen adulten Würmern und Lymphozyten ist bisher in histologischen Studien nicht beobachtet worden, und der präzise Mechanismus, mit welchem sensibilisierte Lymphozyten den Wurmausstoß verursachen, ist nicht bekannt. DINEEN u. Mitarb. (1973) vermuten, daß zellfreie Faktoren wie "Lymphokine" (DUMONDE u. Mitarb., 1969), die durch die Wechselwirkung sensibilisierter Lymphozyten mit homologen Antigenen entstehen, wahrscheinlich eine direkte Wirkung auf den Wurmstoffwechsel haben und den Ausstoß der adulten Parasiten verursachen.
JARRETT u. Mitarb. (1966) stellten fest, daß infizierte neugeborene Ratten im Gegensatz zu den erwachsenen Ratten die Würmer nicht ausstießen. Auch nach Zweitinfektionen war nicht die Immunitätsausbildung festzustellen, wie sie bei adulten Ratten nach Reinfektionen nachgewiesen wurde. Sie stellten im Gegensatz zu KELLER (1971) annähernd gleichgroße Mastzellzahlen und Reagintiter fest. Schützende Antikörper und Allergene wurden im gleichen Maße von beiden Seiten produziert. Dennoch horteten die jungen Ratten im Gegensatz zu den adulten stabile Wurmpopulationen. Erst im Alter von 7 Wochen war ihr Immunitätsstatus mit dem der adulten Ratten zu vergleichen (JARRETT u. URQUHART, 1969).
Die Ausbildung einer anaphylaktischen Reaktion konnte jedoch schon von JONES u. OGILVIE (1967 b) nach 4 Wochen festgestellt werden.

Es sollte durch in vitro-Versuche geprüft werden, ob eine direkte Wechselwirkung zwischen Nippostrongylus und Mastzellen besteht, die eventuell nicht nur eine Mastzelldegranulation, sondern auch eine Schädigung der adulten Würmer bewirkt.

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methodik

Fur die Untersuchungen über die Einwirkung von Mastzellen auf Nippostrongylus brasiliensis in vitro verwendete ich Sprague Dawley-Ratten, die aus einer SPF-Zucht (Inst. f. Versuchstierkunde der FU Berlin) stammten.
Die Tiere wurden in Makrolon-Kästen gehalten und bekamen Altromin Standard-Diät und Wasser ad libitum.
Die Infektionen zur Immunisierung wurden nur an Ratten im Alter von mindestens 12 Wochen und einem Gewicht von 300 - 450 g vorgenommen, da hierbei eine sichere Immunkompetenz garantiert ist.

Das Larvenmaterial von Nippostrongylus brasiliensis zur Infektion der Ratten züchtete ich aus Kotkulturen befallener Tiere in Anlehnung an WEINSTEIN u. JONES (1956).
Hierzu wurden Ratten mit je 2.ooo - 3.ooo Larven infiziert. Der mit Eiern angereicherte Kot (6 - 10 Tage p.i. gewonnen) wurde zu gleichen Teilen mit Aktivkohle versetzt und mit Leitungswasser zu einem Brei verrührt. In ca. 1,5 cm dicker Schicht wurde der Brei auf Fließpapier beetartig aufgetragen und auf einer feuchten Schaumgummiunterlage in Schalen bei Temperaturen von 26° C und ca. 70 % relativer Luftfeuchtigkeit in einer Klimakammer bebrütet. Um eine Austrocknung sowie Pilzbewuchs zu verhindern, befeuchtete ich die Schaumgummiunterlage mindestens alle 2 Tage mit einer Thiomersalatlösung (1:10.000).
Nach 8tägiger Bebrütung wickelte ich die Kulturen in Gaze und setzte sie zum Auswandern der Larven nach der Baermann/Wetzel-Methode auf Trichter, die mit handwarmem Wasser gefüllt waren. Die gewonnenen, gut beweglichen Larven wurden nach dreimaligem Waschen in 0,9 %iger NaCl zu Infektionsdosen von 2.000 - 3.000 aufgeteilt. Die Larven wurden stets frisch subcutan verimpft.
Für meine Versuchsreihen zur Immunisierung benötigte ich sowohl einmal wie auch mehrmals infizierte Ratten. Die mit je 2.500 La. III/Ratte durchgeführten Infektionen wurden bis zu 6 mal im Abstand von je 4 - 8 Wochen nach der 1. Infektion gegeben.
Zur Gewinnung von adulten Nippostrongylus brasiliensis für die in vitro Kulturen wurden Ratten mit je 2.500 infektionstüchtigen

La. III infiziert, 1 Woche p.i. unter Chloroformnarkose getötet und Duodenum und Jejunum möglichst rasch entnommen. Die eröffneten Darmteile befreite ich von groben Verdauungspartikeln und legte sie in Gaze gewickelt in einen mit warmem Wasser gefüllten Trichter zum Auswandern der Adulten.

Um die Adulten für die Kultivierung keimfrei zu machen, verbrachte ich sie nach der Methode von WEINSTEIN u. JONES (1956) in eine sterile Kammer, wo sie mehrmals in einer steril filtrierten Lösung von 20 ml physiologischer NaCl mit einer Konzentration von 625 IE Penicillin/ml und einer Konzentration von 2,6 mg Streptomycin/ml sowie 0,5 ml Thiomersalat (1:10.000) gewaschen wurden. Anschließend kamen die Adulten für 12 Stunden in 30 ml Rattenserum, das mit einer Konzentration von 250 IE Penicillin/ml und einer Konzentration von 0,25 mg Streptomycin/ml und 0,2 ml Thiomersalat (1:10.000) versetzt war. Danach wurden die Würmer in verschließbare Kulturröhrchen (40 x 150) mit 2 ml Nährmedium in Portionen von ca. 20 Exemplaren abpipettiert. Als Mediumlösung für die Bebrütung verwendete ich eine Nährbrühe, die 17,5 ml Yeast Extrakt 10 %ig, 52,5 ml Casein 10 %ig und 105,0 ml Krebs-Ringerlösung enthielt. Zu 50 ml dieser Nährbrühe wurden noch 50 ml Rattenserum mit einer Konzentration von 250 IE Penicillin/ml, einer Konzentration von 0,25 mg Streptomycin/ml und 0,5 ml Thiomersalat (1:10.000) hinzugefügt nach der Methode von WEINSTEIN u. JONES (1956).

Für die Mastzellgewinnung benutzte ich Tyrodelösung, die mit 100 mg/l Rinderalbumin und 50 mg/l Heparin versetzt war. Zum Waschen der Zellen dagegen verwendete ich Tyrodelösung ohne Heparinzusatz. Die Lösungen hatten einen pH von 7.4 - 7.8, waren steril filtriert und sämtliche Glaswaren silikonisiert. Für die Trennung der verschiedenen Zellarten aus der Bauchhöhlenspülflüssigkeit verwendete ich eine Ficoll-Lösung (Pharmacia Uppsala). 30 g Ficoll wurden mit 100 ml phosphatgepufferter Saline im Wasserbad bei + 55° C gelöst und dann autoklaviert (121° C/21 Min.). Zur Gewinnung der Mastzellen in Anlehnung an die Methode von VALENTIN u. Mitarb. (1967) wurden die Ratten einen Tag vor Versuchsbeginn in mit Drahteinsätzen versehene Makrolonkäste gesetzt, um Verschmutzungsmöglichkeiten mit Kot und Urin weitgeh

einzuschränken.
Nach Entbluten unter Chloroformnarkose wurden Kopf und Schwanz abgesetzt, der Tierkörper mit 70 %igem Alkohol abgerieben, die Bauchdecken vom Fell freipräpariert, nochmals mit Alkohol abgerieben und in eine sterile Kammer verbracht. Dort wickelte ich die Ratten in Aluminium-Folie, so daß nur noch die Bauchdecken für Eingriffe zugänglich waren. Anschließend injizierte ich den Ratten je nach Gewicht 7.5-8.5 ml Tyrodelösung (+ Heparin) intraperitoneal, massierte leicht für 90 Sek. den Abdominalbereich, um auch am Bauchfell und den Eingeweiden anhaftende Mastzellen abzuspülen und eröffnete nach nochmaliger Alkoholdesinfektion die Bauchdecke im Bereich der Linea alba.
Die mit einer Pipette gewonnenen ca. 4 ml Bauchhöhlenspülflüssigkeit wurden einer 2 ml Ficoll-Lösung im Zentrifugenröhrchen (105 x 16 mm) überlagert.
Größere Zentrifugenröhrchen, die Zellsuspensionen mehrerer Ratten hätten aufnehmen können, waren für die Mastzellgewinnung nicht geeignet.
Nach dem Abziehen der Bauchhöhlenspülflüssigkeiten von 4 Ratten zentrifugierte ich die Röhrchen bei 200 g für 7 Min. und stellte sie in eine zweite sterile Kammer.
Die Mastzellen sammelten sich auf dem Boden und in den untersten Schichten des Ficolls an, während die anderen Zellarten eine Schicht über dem Ficoll bildeten.
Mit einer Pasteurpipette zog ich die Bauchhöhlenspülflüssigkeit bis zu dieser Zellschicht ab, verwarf sie und schuf gleichzeitig eine kleine Öffnung in der Mitte der Zellschicht.
Durch diese Öffnung senkte ich eine zweite Pasteur-Pipette bis auf den Boden des Röhrchens, sog ca. 30 Tropfen des Ficolls mit der erhaltenen reinen Mastzellsuspension ab und pipettierte sie jeweils in ein weiteres Zentrifugenröhrchen.
Mit der ersten Pipette wurde nun die gesamte oberste Schicht des Ficolls abgezogen und verworfen. Die verbliebenen unteren Schichten des Ficolls wurden anschließend mit der zweiten Pipette abgezogen und der bereits gewonnenen Mastzellsuspension hinzugefügt.
Die am Röhrchenboden noch anhaftenden Mastzellen wurden mit 2-3 Tropfen Tyrodelösung vorsichtig aufgeschüttelt und ebenfalls verwendet. Dabei vermied ich eine Berührung der Tropfen mit den

oberen Randschichten, um eine Vermischung mit den übrigen Exsudatzellen zu verhindern.
Die so erhaltenen 4 neuen Zentrifugenröhrchen mit den Mastzellsuspensionen je einer Ratte wurden 2 mal mit Tyrodelösung (ohne Heparin) gewaschen und jeweils bei 70 g für 5 Minuten zentrifugiert.
Der jeweils für die Beimpfung einer Versuchscharge hergestellte Gesamtpool wurde auf 1,5 ml eingedickt und enthielt Mastzellen von 8 Ratten.
In Vorversuchen wurde die Überlebensfähigkeit der so gewonnenen Mastzellen überprüft. Hierzu wurden die Zellsuspensionen in Nippostrongylus-Kulturmedien über 24 Stunden im Brutschrank bei + 38° C gehalten und anschließend mikroskopisch auf Strukturveränderungen geprüft sowie eine Vitalfärbung mit Trypanblau angefertigt.
Über 90 % der Zellen waren nicht beschädigt. Die Mastzellzahl ermittelte ich mit der Zählkammer nach NEUBAUER.
Für die Versuche über den Einfluß von Mastzellen auf adulte Nippostrongylus wurden die nach oben beschriebener Methodik gewonnenen und gereinigten Adulten in Portionen von ca. 20 Exemplaren in Röhrchen mit je 2 ml Medium und entsprechendem darin enthaltenem Rattenserumzusatz für 24 Stunden im Brutschran gehalten. Die danach eventuell kontaminierten Chargen wurden ver worfen bzw. nur diejenigen Röhrchen verwendet, in denen die Nippostrongylus die geringste Absterberate und größte Vitalität zeigten.
Die verimpfte Mastzellzahl, gewonnen aus ein- bzw. mehrmals infizierten Ratten, betrug 16 x 10^5/Versuchsreihenröhrchen. Da die gewonnene Zellzahl bei nicht infizierten Ratten niedriger lag, konnten nur 8 x 10^5 Zellen/Röhrchen verimpft werden.

Die Mastzellen einmal infizierter Tiere wurden 25 Tage p.i. entnommen, da nach KELLER (1970 b) mit der größten Sensibilisierung und Anreicherung im Bauchhöhlenexsudat zu rechnen ist.
Die Mastzellen der mindestens jeweils 3-6 mal infizierten Ratten wurden 10 bzw. 15 Tage nach der letzten Infektion gewonnen.

In der folgenden tabellarischen Übersicht werden die einzelnen Versuchsreihen der Serien dargestellt.

Bei den Serien A - D wurden je 2 Versuchsreihen (a, b) und je eine Kontrollreihe (c) mit jeweils 10 Kulturröhrchen angesetzt.

In der Serie A sollte der Einfluß von Mastzellen einmal (MI_1) bzw. nicht infizierter Ratten (MN) unter Verwendung von Serumzusätzen nicht infizierter Tiere (NS) geprüft werden.

	a NS	b NS	c NS
1. Tag	MI_1 aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-
2. Tag	MI_1 aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-
3. Tag	Umsetzen d. Adulten in neue Medien, keine Zellzusätze		
4. Tag	MI_1 aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-

Die Serie B wurde mit Mastzellen mehrmals infizierter (MI_x) und nicht infizierter Ratten (MN) durchgeführt. Es wurden Serumzusätze nicht infizierter Tiere (NS) zugesetzt.

	a NS	b NS	c NS
1. Tag	MI_x aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-
2. Tag	MI_x aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-
3. Tag	Umsetzen d. Adulten in neue Medien, keine Zellzusätze		
4. Tag	MI_x aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-
5. Tag	MI_x aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-

In der Serie C prüfte ich den Einfluß von Mastzellen, gewonnen aus einmal (MI_1) bzw. nicht infizierten Ratten (MN).
Ich verwendete Serumzusätze einmal infizierter Tiere (IS_1).

	a IS_1	b IS_1	c IS_1
1. Tag	MI_1 aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-
2. Tag	MI_1 aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-

Bei der Serie D wurden die Versuchsreihen mit Mastzellen mehrmals (MI_x) bzw. nicht infizierter Ratten (MN) angesetzt unter Verwendung von Serumzusätzen mehrmals infizierter Tiere (IS_x).

	a IS_x	b IS_x	c IS_x
1. Tag	MI_x aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-
2. Tag	MI_x aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-

Bei den letzten beiden Serien E u. F wurde der gewonnene Mastzellenpool auf nur je 2 Röhrchen a 20 Nippostrongylus-Exemplare der Versuchsreihen verteilt, so daß die Zellkonzentrationen/Röhrchen 5 x höher lagen als bei den vorangegangenen Serien.

In der Serie E prüfte ich den Einfluß von Mastzellen einmal (MI_1) bzw. nicht infizierter Ratten (MN) unter Verwendung von Serumzusätzen nicht infizierter Tiere (NS).

	a NS	b NS	c NS
1. Tag	MI_1 aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-
2. Tag	MI_1 aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-

Die Versuchsreihen der Serie F wurden mit Mastzellen aus mehrmals (MI_x) und nicht infizierten Tieren (MN) versetzt. Der Versuchsreihe a wurde Serum mehrmals infizierter Ratten (IS_x), der Versuchsreihe b und der Kontrollreihe c Serum nicht infizierter Tiere (NS) zugegeben.

	a IS_x	b NS	c NS
1. Tag	MI_x aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-
2. Tag	MI_x aus 8 Ratten	MN aus 8 Ratten	-

3.2 Ergebnisse

In meinen Versuchen zur Gewinnung von Mastzellen aus Bauchhöhlenexsudat zeigte sich, daß die Zellzahlen bei den nicht infizierten Ratten bei 10^6 Zellen/Tier lagen. Bei einfach und mehrfach infizierten Ratten zählte ich die doppelte Anzahl an Mastzellen, 2 x 10^6/Tier. Die von mir nach Gradientenzentrifugation mit Ficoll gewonnenen Zellsuspensionen enthielten mehr als 90 % Mastzellen. Die Überlebensfähigkeit der Zellen lag nach 24 Stunden in den Kulturmedien (+ 38° C) bei über 90 %. Veränderungen durch die Ficoll-Behandlung, die sich nachteilig auf die Mastzellen hätten auswirken können, stellten sich nicht ein (siehe Abb. 1). Eine sterile Gewinnung der Zellsuspensionen war garantiert, da nach Bebrütung in den Nährmedien keine Kontaminationen auftraten.

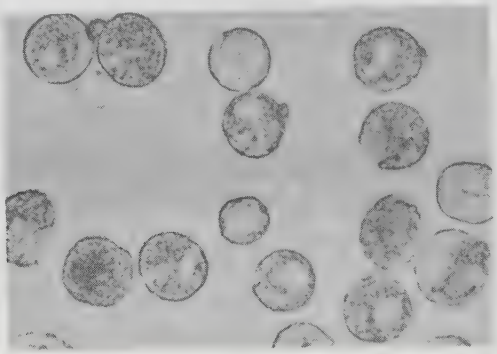

Abb. 1: Mastzellen aus Peritonealspülflüssigkeit von Ratten nach 24 h Bebrütung im Kulturmedium. (Orig.Vergr. 832 x)

Für die Versuchsreihen mit Mastzellzusätzen zu den in vitro gehaltenen adulten Nippostrongylus beimpfte ich in der Serie A 2 Versuchsreihen mit Zellen 1 mal (MI_1) bzw. nicht infizierter Tiere (MN). Die Serie B wurde mit Mastzellen 6 mal infizierter (MI_x) und nicht infizierter Ratten (MN) durchgeführt. Die Kontrollreihen (c, c') bei diesen und allen folgenden

Versuchen waren ohne Mastzellen. Die Medien wurden in beiden Serien mit Serum nicht infizierter Tiere (NS) angesetzt.
Bei der Versuchsserie A war in den Kulturröhrchen, die mit Mastzellen 1 mal infizierter Ratten (a) beimpft worden waren, kurz vor der 2. Zellverimpfung die Absterberate adulter Nippostrongylus um 2,4 % höher als bei der Versuchsreihe mit Mastzellen nicht infizierter Ratten (b), dagegen um 2,4 % niedriger als bei der Kontrollreihe (c). Innerhalb von 19 Stunden stiegen dann die Adultenausfälle in den Versuchsröhrchen der Charge (a) um 16,7 %, bei der Versuchsreihe (b) um nur 2,8 %, während die Adultenausfälle der Kontrollreihe (c) 15,5 % betrugen. Den geringsten Adultenausfall wies somit während der ganzen Versuchsdauer die Versuchsreihe mit den Mastzellen nicht infizierter Ratten auf (siehe Tab. 1; das Ausmaß der biologisch-methodischen Variation verdeutlicht als Beispiel die Serie A siehe Anhang).

		Serie A			Serie B		
	h	(a)	(b)	(c)	(a')	(b')	(c')
B ►		MI_1 + NS	MN + NS	NS	MI_x + NS	MN + NS	NS
	0-6	1	0	0	0	1,2	3,6
	6-15	7,4	4	2,2	17	1,2	4,5
B ►	15-20	7,4	5	9,6	17	1,2	4,5
	20-23	21,3	5	9,8	17	5,8	5,7
	23-28	30	5	19,8	17	5,8	9,7
	28-39	38	7,6	25,5	23	15,1	20,6

Tab. 1: Durchschnittl. Absterberate (in %) von adulten Nippostrongylus aus jeweils 10 Röhrchen, die bei Versuchsbeginn und 20 Stunden danach Zusätze von Mastzellen 1 mal (a), 6 mal (a') und nicht infizierter Ratten (b, b') erhielten. B = Zeitpunkt d. Zellzusatzes, h = Stunden nach d. Zellzusatz.

In der Serie B war kurz vor dem Beginn der 2. Zellverimpfung bei den mit Mastzellen 6 mal infizierter Tiere beschickten Versuchsröhrchen (a') der Prozentsatz an Adultenausfällen um 15,8 % höher als bei der parallel dazu angesetzten Versuchsreihe (b') und um 12,5 % höher als bei der Kontrollreihe (c'). Innerhalb von 8 Stunden nach der 2. Zellverimpfung stiegen die Adultenausfälle bei den mit Mastzellen nicht infizierter Tiere beschickten Versuchsröhrchen (b') um 4,6 % und bei der Kontrollreihe (c') um 5,2 %, während bei der Versuchsreihe (a') keine

weiteren Ausfälle zu verzeichnen waren.
Bei Versuchsende (28-39 h) war wiederum die Versuchsreihe mit den Mastzellen nicht infizierter Ratten (b') diejenige, welche die geringsten Adultenausfälle aufwies (siehe Tab. 1).

Die Serie C wurde mit Mastzellzusätzen 1 mal infizierter (MI_1) bzw. nicht infizierter Ratten (MN) durchgeführt. Die Nährmedien wurden mit Serum 1 mal infizierter Ratten (IS_1) versehen.
Der Serie D wurden Zellzusätze 4 mal infizierter (MI_x) bzw. nicht infizierter Ratten (MN) zugesetzt. In dieser Serie wurden die Nährmedien mit Serumzusätzen 4 mal infizierter, immuner Ratten (IS_x) verwendet.
In der Serie C konnte bei beiden Versuchsreihen (a + b) nach der 1. Beimpfung mit Mastzellen eine etwa gleich große Adultenausfallsrate festgestellt werden. Sie war bei dem Kontrollversuch (c) um 5,6 % höher.
Bei Versuchsende lag der Prozentsatz der Adultenausfälle bei der Versuchsreihe (a) mit 5 % unter dem der Versuchsreihe (b) mit 7,8 % und der Kontrollreihe (c) mit 15,1 % (siehe Tab. 2).

		Serie C			Serie D		
	h	(a)	(b)	(c)	(a')	(b')	(c')
B		$MI_1 + IS_1$	$MN + IS_1$	IS_1	$MI_x + IS_x$	$MN + IS_x$	IS_x
	0-6	0	0	0	0	5,3	3,6
	6-10	1	0	3,2	2,2	10,5	3,6
	10-20	1,9	1,9	7,5	3,4	13,3	10,7
B	20-24	1,9	1,9	7,5	12,4	29,3	12,5
	24-28	2,9	2,9	9,7	12,4	29,3	19,6
	28-33	2,9	2,9	15,1	14,6	30,7	26,7
	33-38	5	7,8	15,1	15,7	32	35,8

Tab. 2: Durchschnittl. Absterberate (in %) von adulten Nippostrongylus aus jeweils 10 Röhrchen, die 2 mal im Abstand von 24 Stunden Zusätze von Mastzellen 1 mal (a), 4 mal (a') und nicht infizierter Ratten (c, c') erhielten. B = Zeitpunkt d. Zellzusatzes, h = Stunden nach d. Zellzusatz.

In der Serie D zeigte sich, daß 24 Stunden nach der 1. Beimpfung die Adultenausfälle in den Kulturröhrchen, die mit Mastzellen nicht infizierter Ratten (b') beschickt waren, um 16,9 % höher lagen als bei der Versuchsreihe (a') und der Kontrollreihe (c').

Nach der 2. Beimpfung stiegen die Adultenausfälle bei den mit Mastzellen 4 mal infizierter Tiere versetzten Kulturröhrchen (a') nur noch um 3,3 %, bei den Röhrchen der Reihe (b') nur noch um 2,7 %, während die Ausfälle bei der Kontrolle (c') sich um 23,3 % erhöhten und somit bei Versuchsende die Absterberate bei den Versuchsreihen (b' + c') mehr als das Doppelte betrug als bei der Versuchsreihe mit den Mastzellen 4 mal infizierter Ratten (a') (siehe Tab. 2).

In den Serien E und F wurden die Versuchsröhrchen mit Mastzellen aus 1 mal infizierten Ratten (MI_1) bzw. 3 mal infizierten Ratten (MI_x) beimpft. Parallel dazu setzte ich jeweils eine Versuchsreihe mit Mastzellen aus nicht infizierten Tieren an (MN). Ausgenommen die Versuchsreihe mit den Mastzellzusätzen (MI_x) in der Serie F, deren Medium ich mit Serum infizierter Tiere (IS_x) versetzte, verwendete ich für alle anderen Medien Serum nicht infizierter Ratten (NS). Nach der 1. Zellverimpfung waren bei den mit Mastzellen nicht infizierter Tiere versehenen Kulturröhrchen (b) der Serie E keine Adultenausfälle festzustellen. Die Versuchsreihe (a) zeigte nur 2,2 % Ausfälle, während die Absterberate bei der Kontrollreihe (c) mit 17,2 % weit darüber lag. Am Ende der 2. Beimpfung lagen die prozentualen Ausfälle von Nippostrongylus bei den mit Mastzellen beschickten Versuchsröhrchen der Reihen (a + b) nahe beieinander, die der Kontrollreihe (c) waren jedoch fast 4 mal so hoch (siehe Tab. 3).

		Serie E			Serie F		
	h	(a)	(b)	(c)	(a')	(b')	(c')
B ►		MI_1 + NS	MN + NS	NS	MI_x + IS_x	MN + NS	NS
	0-6	0	0	0	0	7,3	0
	6-10	2,2	0	0	0	10	0
	10-20	2,2	0	11,4	0,8	14,6	0
B ►	20-24	2,2	0	17,2	15,4	14,6	0
	24-28	2,6	2,4	48,6	19,2	17,1	4
	28-37	10,6	9,8	48,6	26,9	31,7	4
	37-49	13,8	12,5	48,6	46,2	34,1	4

Tab. 3: Durchschnittl. Absterberate (in %) von adulten Nippostrongylus aus jeweils 2 Röhrchen, die bei Versuchsbeginn und 24 Stunden danach Zusätze von Mastzellen 1 mal (a), 3 mal (a') und nicht infizierter Ratten (c, c') erhielten. B = Zeitpunkt d. Zellzusatzes, h = Stunden nach d. Zellzusatz.

In der Serie F lag der Adultenausfall 20 Stunden nach der 1. Beimpfung bei den Versuchsröhrchen mit Mastzellen nicht infizierter Tiere (b') mit 14,6 % weit über dem der Reihe (a'). Die Kontrollreihe (c') wies bis dahin noch keine abgestorbenen Nippostrongylus auf. Nach weiteren 4 Stunden (zwischen 20. - 24. h) stiegen jedoch die Adultenausfälle bei den Kulturröhrchen mit den Mastzellen 3 mal infizierter Ratten (a') von 0,8 % auf 15,4 %, während sich die Ausfallquoten bei den Röhrchen der Reihen (b' + c') nicht veränderten.
Nach der 2. Beimpfung und bei Versuchsende waren aber die Adultenausfälle bei der Versuchsreihe (a') höher, die Ausfälle der Kontrollreihe (c') blieben unbedeutend (siehe Tab. 3).

Um die Einwirkung von Nippostrongylus auf Mastzellen von infizierten bzw. nicht infizierten Ratten in vitro zu kontrollieren, wurde die Degranulationsrate der den Kulturen zugesetzten Zellen in zeitlichen Abständen beobachtet und in entsprechenden Kurven dargestellt.

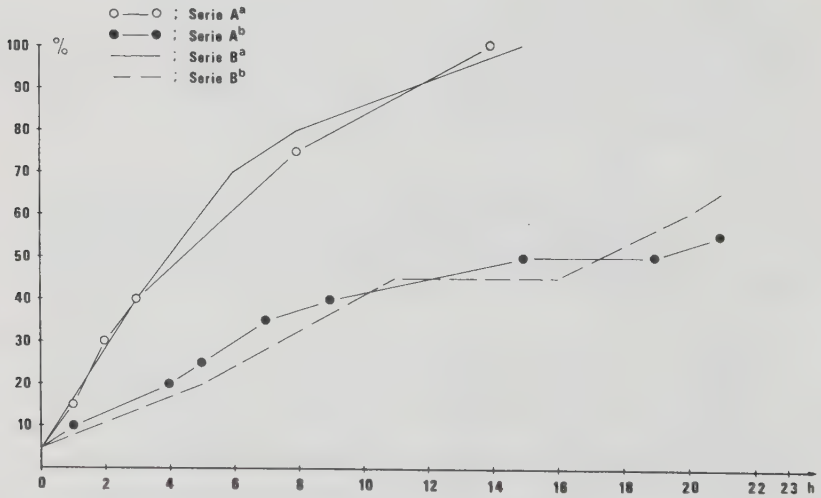

Abb. 2: Degranulation von Mastzellen aus 1 mal (A^a), 6 mal (B^a) und nicht infizierten Ratten (A^b, B^b) über 20 Stunden (in %) aus jeweils 10 Röhrchen mit adulten Nippostrongylus.

Die Degranulation von Mastzellen aus 1 mal (Serie A) und 6 mal (Serie B) infizierten Ratten setzt bereits wenige Stunden nach Zugabe zu den Nippostrongylus-Kulturen ein. Wesentlich langsamer verläuft der Zerfall bei den Mastzellen nicht infizierter Tiere. Er liegt nach 15 Stunden bei 45 % (siehe Abb. 2 u. 3), während die Mastzellen infizierter Tiere bereits zu 100 % degranuliert sind (siehe Abb. 2 u. 4).

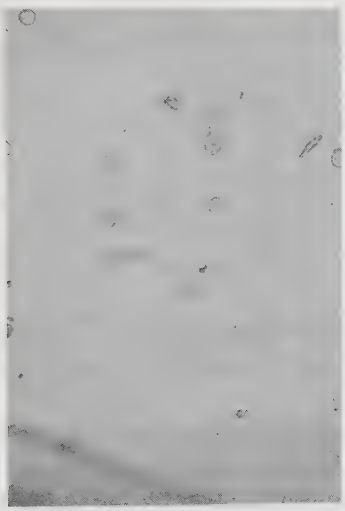

Abb. 3: Degranulation von Mastzellen aus nicht infizierten Ratten 15 h nach Zellzusatz zu den in Kulturmedien gehaltenen Nippostrongylus (Orig.Vergr. 280 x)

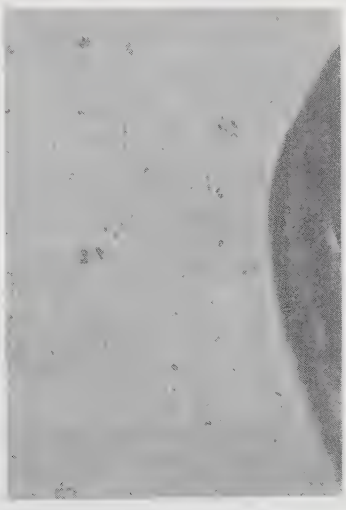

Abb. 4: Degranulation von Mastzellen aus 1 mal infizierten Ratten 15 h nach Zellzusatz zu den in Kulturmedien gehaltenen Nippostrongylus (Orig.Vergr. 280 x)

In den Serien C und D wurden Mastzellen aus 1 mal und 4 mal infizierten Ratten bzw. nicht infizierten Tieren verwendet. Auch hier zeigt die Degranulationsrate der Mastzellen einen ähnlichen Verlauf wie in den beiden vorhergehenden Serien A und B, allerdings zeitlich etwas verzögert (siehe Abb. 5).

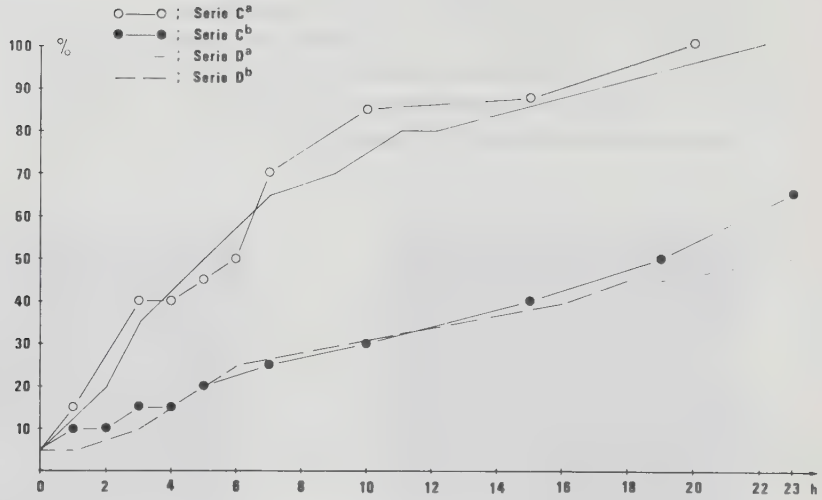

Abb. 5: Degranulation von Mastzellen aus 1 mal (C^a), 4 mal (D^a) und nicht infizierten (C^b, D^b) Ratten über 23 h (in %) aus jeweils 10 Röhrchen mit adulten Nippostrongylus.

Den Versuchsreihen der Serie E waren Mastzellen 1 mal und nicht infizierter Ratten zugesetzt, die Nährmedien enthielten Serum nicht infizierter Ratten. In der Serie F beimpfte ich eine Versuchsreihe mit Mastzellen 3 mal infizierter Tiere.
Im Unterschied zu den ersten 4 Serien betrug die Zellkonzentration/Röhrchen das 5-fache.

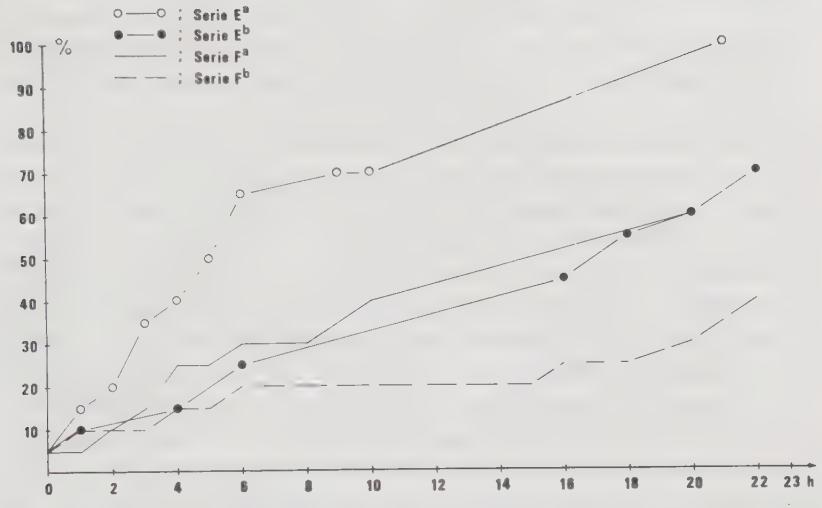

Abb. 6: Degranulation von Mastzellen aus 1 mal (E^a), 3 mal (F^a) und nicht infizierten (E^b, F^b) Ratten über 22 h (in %) aus jeweils 2 Röhrchen mit adulten Nippostrongylus.

Auch hier ist die Degranulation der Mastzellen aus den infizierten Ratten höher als bei den jeweils dazugehörigen Versuchsreihen mit den Mastzellen aus nicht infizierten Ratten.
Deutlich tritt hier jedoch eine starke Verzögerung der Degranulation ein. Lediglich bei den Mastzellen 1 mal infizierter Ratten wird nach 21 Stunden das Maximum mit 100 % erreicht, bei den Mastzellen aus mehrmals infizierten Tieren liegen die Degranulationswerte noch nach 22 Stunden erst bei 70 %. Der Verlauf der Degranulation im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollen ist aus der Abb. 6 im einzelnen zu entnehmen.

4. Besprechung der Ergebnisse

In meinen Versuchen prüfte ich die Einwirkung von Mastzellen sensibilisierter Ratten auf adulte Nippostrongylus brasiliensis in vitro.
Es wurde festgestellt, daß Mastzellen sensibilisierter Ratten, die nach WILSON und BLOCH (1968) durch einen Antigenkontakt degranulieren, um Histamin freizugeben, keine eindeutige in diesen Versuchen zu beweisende Wirkung auf die adulten Nippostrongylus hatten.
In den Serien A, B und F konnten zwar die höchsten Adultenausfälle bei den mit Mastzellen sensibilisierter Tiere im Vergleich zu den jeweils parallel dazu angesetzten Versuchsreihen mit Zellen nicht infizierter Ratten und den Kontrollreihen ohne Zellzusatz festgestellt werden; aber in den Serien C und D wiederum waren die Adultenausfälle am niedrigsten und in der Serie E lagen sie nur 1,3 % höher als bei der Versuchsreihe mit Mastzellen nicht infizierter Tiere und weit unter den Ausfällen der Kontrollreihe.
Auf Grund der verschieden hohen Abweichungen der Adultenausfälle bei den Versuchsreihen mit Mastzellen nicht infizierter Ratten ist auch hier keine eindeutige Aussage über einen Einfluß der Degranulation auf die adulten Würmer möglich. Die Wirkung einer erhöhten Mastzelldegranulation auf größere Adultenausfälle konnte nicht festgestellt werden.

Da den Kulturmedien in den entsprechenden Kontrollreihen Serum nicht infizierter bzw. infizierter, also immuner Tiere zugesetzt wurde, konnte auch die Wirkung von Antikörpern auf die Adulten geprüft werden. Es zeigte sich, daß bei den Kontrollreihen, denen keine Mastzellen zugesetzt worden waren, Serumzusätze nicht infizierter bzw. infizierter Ratten keinen unterschiedlichen Einfluß auf die adulten Würmer hatten, denn die Größe der Adultenausfälle bei den Immunserumzusätzen lag im Bereich der Ausfälle der Seren nicht infizierter Tiere.
Die prozentualen Unterschiede der Adultenausfälle bei den Immunserumzusätzen der Serien C (15,1 %) und D (35,8 %) waren ebenfalls zu unterschiedlich, um eine direkte Einwirkung auf die Adulten feststellen zu können. SCHWABE (1957 a + b) beschrieb eine Beeinträchtigung der Lebensfähigkeit von Larven durch eine

verringerte O_2-Aufnahme in den Immunseren bei Nippostrongylus. MULLIGAN u. Mitarb. (1965) stellten zwar ebenfalls eine verringerte O_2-Aufnahme bei den Adulten fest, ohne es jedoch unbedingt auf den Immunserumzusatz zurückzuführen.
Auch die "in vitro"-Beeinflussung von Nippostrongyluslarven durch Immunseren in Form von Präzipitatreaktionen an den natürlichen Körperöffnungen, die als Antigen-Antikörper-Reaktionen lebender Nematodenlarven "in vitro" mit homologen Immunseren angesehen werden, konnten bei den Adulten auf Grund großer Beweglichkeit und einem somit bedingten eventuellen Abstreifen der Präzipitate nicht entdeckt werden. Auch bei anderen Strongyliden des Magen- und Darmtraktes konnte kein Einfluß durch Immunserumzusatz beobachtet werden (DALCHOW u. HÖRCHNER, 1969; CASTRO u. Mitarb., 1973). THORSON (1954) stellte fest, daß ein längeres Verweilen im Immunserum eine zunehmende schädliche Wirkung auf die Infektiosität der Larven hatte; mikroskopisch wahrnehmbare Schädigungen konnte er aber nicht nachweisen.
Es kann also angenommen werden, daß Zusätze von Immunseren, die humorale Antikörper enthalten, nicht für eine direkte protektive Wirkung verantwortlich sind. Daß in diesen Immunseren humorale Antikörper vom Reagintyp vorhanden sind, bewiesen OGILVIE (1967), WILSON u. BLOCH (1968) und KELLER (1970 a). JONES u. Mitarb. (1970), KELLER u. JONES (1971) fanden Antikörper verschiedener Immunoglobulinklassen nach Sensibilisierung der Ratten mit Nippostrongylus.
Ein direkter Einfluß von Serumzusätzen infizierter bzw. nicht infizierter Tiere auf Mastzellen sensibilisierter oder nicht sensibilisierter Ratten in Form veränderter Degranulation der Zellen konnte nicht ermittelt werden. Im Gegensatz dazu berichteten WILSON u. BLOCH (1968) von Mastzellsensibilisierungen durch homologe Antikörper enthaltende Immunseren mit erhöhter Histaminausschüttung, in denen nachweisbar homozytotrope Antikörper waren.
Entscheidend für die Degranulation der Mastzellen bei meinen Versuchen war die vorherige Sensibilisierung durch Infektion der Ratten. Es konnte ein erheblicher Unterschied in der Degranulation von Mastzellen bereits einmal oder mehrmals sensibilisierter Ratten zu denen nicht sensibilisierter Tiere festgestellt werden. In den Serien A und B war die Mastzelldegranulation bereits nach 14 Stunden bzw. 15 Stunden abgeschlossen, während zu diesem

Zeitpunkt die Mastzellen nicht sensibilisierter Ratten der Serien A und B erst zu 50 % bzw. 45 % degranuliert waren. In den Serien C und D waren fast die gleichen Unterschiede festzustellen.
Ähnliche Unterschiede in der Degranulation von Mastzellen stellte KELLER (1970) fest.
Nur bei der Serie E (Mastzellen aus nicht sensibilisierten Ratten) und der Serie F (Mastzellen aus 3 mal infizierten Ratten) näherten sich die Degranulationswerte. Der Grund, daß die Degranulationskurve der Serie F nicht wesentlich höher lag als die der Serie E mag darin liegen, daß die Zellgewinnung für die Mastzellen aus 3 mal infizierten Ratten nicht 15 Tage nach der letzten Infektion geschah, wie es bei den Zellentnahmen der 6 mal bzw. 4 mal infizierten Ratten der Fall war, sondern schon 10 Tage nach der letzten Infektion geschah und somit die Möglichkeit besteht, daß zu diesem Termin eine wesentlich geringere Sensibilisierung der Mastzellen vorliegt.
KELLER (1970) stellte in seinen Versuchen fest, daß aus Mastzellen, die 3 bis 12 Tage nach der letzten Infektion aus 3 mal infizierten Ratten gewonnen wurden, die Histaminfreisetzung gering war.
WILSON u. BLOCH (1968) stellten zwar 9 Tage nach der letzten Infektion 3 mal infizierter Ratten eine merkbare Freisetzung von Histamin aus Mastzellen fest; der durchschnittliche ermittelte Wert lag aber nur bei 14 %. Die Zellentnahme 5 und 18 Tage nach der letzten Infektion erbrachte aber wesentlich höhere Prozentzahlen in der Histaminausschüttung.

Die Antigenausscheidung von jeweils ca. 20 Adulten/Röhrchen erschien mir als ausreichend. WILSON u. BLOCH (1968) erreichten bei Mastzellen, die sie von Tieren zur Zeit verschiedener Infektionsstadien und nach einer verschiedenen Anzahl von Infektionen erhielten, mit Antigenzugaben von nur 0,2 bis 0,002 ml Wurmextrakt (4.000 Adulte/ml) eine maximale Histaminfreisetzung. Höhere Antigenkonzentrationen verhinderten die Histaminabgaben.

Da die Sensibilisierung der Mastzelle durch den homozytotropen Antikörper geschieht, der in Reaktion auf der Mastzelloberfläche mit dem vom Wurm stammenden Antigen tritt, um eine Histaminausschüttung auszulösen, deren Folgen in einer anaphylaktischen

Reaktion liegen, die es schützenden Antikörpern ermöglicht, durch entstehende Permeabilitätsänderungen im Gewebe zum Wurm zu gelangen und ihn zu schädigen, wie URQUHART u. Mitarb. (1965), BARTH u. Mitarb. (1966), JARRETT u. Mitarb. (1967) behaupten, finden WILSON u. BLOCH (1968) gegenwärtig keine Erklärung für die Abnahme antigeninduzierter Histaminfreisetzung aus Mastzellen trotz fortgesetzter Gegenwart großer Mengen zirkulierender homozytotroper Antikörper.
KELLER (1970) konnte die Symptome der Systemanaphylaxie demonstrieren, als sensibilisierte Mastzellen noch nicht auftraten.
Diese noch offenstehenden Fragen, welche endgültige Rolle der Anaphylaxie beim Wurmausstoß zukommt und ob sie überhaupt wichtig ist, da passive Immunisierungen von Ratten mit Immunseren möglich waren, WILSON u. BLOCH (1968), JONES u. Mitarb. (1970), bleibt noch zu klären. Nach KELLER u. KEIST (1972) ist die Anaphylaxie für den Wurmausstoß nicht ausschlaggebend. DINEEN u. Mitarb. (1973) schließen sich durch ihre neuesten Versuchsergebnisse im wesentlichen der Meinung KELLER'S und KEIST'S an.
Somit wird zwar eine sich entwickelnde Systemanaphylaxie bei der aktiven Immunität nicht verneint, aber ihr möglicher Einfluß auf den Wurmausstoß stark in Frage gestellt. Zumindest konnte in meinen Versuchen eine direkte Wirkung degranulierter Mastzellen auf die adulten Nippostrongylus nicht festgestellt werden. Man ist eher geneigt anzunehmen, daß humorale Antikörper ohne Beteiligung von Reaginen und zelluläre Elemente (Lymphozyten) durch ihre verschiedenen, sich ergänzenden Immunantworten für den Wurmausstoß verantwortlich sein dürften.

5. Zusammenfassung

In 6 Versuchsserien wurde die Einwirkung von Mastzellen unterschiedlich mit Nippostrongylus brasiliensis-infizierter und nicht infizierter Ratten auf adulte Würmer überprüft, die in Nährmedien mit Serumzusätzen analog vorbehandelter Ratten gehalten wurden.

Die nach Gradientenzentrifugation mit Ficoll aus der Bauchhöhlenspülflüssigkeit von Ratten gewonnenen Mastzellen wurden 2 mal in Dosierungen von 8×10^5 - 4×10^6 den einzelnen Versuchsröhrchen zugesetzt. Als Kontrolle dienten Nippostrongylus, die in Nährmedien mit Zusatz von Serum nicht infizierter Ratten, aber ohne Mastzellzugabe gehalten wurden.

Es zeigte sich, daß Mastzellen sowohl einmal als auch mehrmals sensibilisierter Ratten keine eindeutige Wirkung auf die adulten Nippostrongylus hatten.

In 4 Serien, bei denen die Versuchsröhrchen mit Mastzellen einmal als auch mehrmals sensibilisierter Ratten beschickt wurden, lagen die Adultenausfälle mit 38 %; 23 %; 46,2 % und 13,8 % am höchsten. In den parallel dazu angesetzten Versuchsreihen mit Mastzellen aus nicht infizierten Tieren betrug die Absterberate 7,8 %; 15,1 %; 34,1 % und 12,5 %. Die Mortalität bei den gleichzeitig mitlaufenden Kontrollreihen lag bei 25,3 %; 20,6 %; 4 % und 48,6 %.

In 2 weiteren Serien, deren Röhrchen ebenfalls mit Mastzellen einmal und mehrmals infizierter Tiere beimpft wurden, lag die Absterberate jedoch nur bei 5 % und 15,7 %. In den dazugehörigen Versuchsreihen, beschickt mit Mastzellen nicht infizierter Ratten, betrugen die Adultenausfälle dagegen 7,8 % und 32 %. Bei den entsprechenden Kontrollreihen stiegen die Adultenausfälle sogar auf 15,1 % und 35,8 %.

Seren infizierter oder nicht infizierter Ratten hatten weder einen spezifischen Einfluß auf die Adultensterblichkeit noch auf die Mastzellendegranulation. Erhöht wurde letztere nur bei Verwendung von Mastzellen sensibilisierter Ratten in Anwesenheit von Nippostrongylus.

In 4 Serien waren die Zellen von infizierten Ratten bereits nach 14 - 22 Stunden zu 100 % degranuliert, dagegen die von nicht infizierten Tieren nur zu 40 - 50 %.

Summary

The influence of mast cells, deriving from control animals and from rats infected by different rates of Nippostrongylus brasiliensis upon adult worms kept in medias, containing serum of rats treated in analogous procedure, was tested in 6 series of experiments.

The mast cells obtained by Ficoll-gradient-centrifugation of peritoneal liquid of rats were added twice in doses of 8×10^5 - 4×10^6 to the test-tubes. The adult worms of the control series were kept in medias, containing serum of uninfected rats but devoid of mast cells.

Mast cells from rats sensitized once as well as several times had no significant effect on adult Nippostrongylus.

In 4 series the mortality rates of adult worms in test-tubes, charged with mast cells from rats, sensitized once as well as several times, were the most elevated: 38 %; 23 %; 46,2 % and 13,8 %. The mortality in test-tubes, correspondingly charged with cells of not sensitized rats were 7,8 %; 15,1 %; 34,1 % and 12,5 %. The mortality of the control-series were 25,3 %; 20,6 %; 4 % and 48,6 %.

In 2 other series the mortality of worms in test-tubes, charged with cells from rats, sensitized once as well as several times amounted only to 5 % and 15,7 %. The mortality of Nippostrongylus in test-tubes however, charged with mast cells of not sensitized animals were 7,8 % and 32 %. In the control series the rates even increased to 15,1 % and 35,8 %.

The sera of infected as well as of uninfected rats did not exert a specific influence on the mortality of Nippostrongylus and on the degranulation of mast cells. In the presence of Nippostrongylus the degranulation only increased using mast cells of sensitized rats.

A 100 percent degranulation of cells from infected rats occured in 4 series already within 14 - 22 hours, while cells of uninfected rats revealed a 40 - 50 % degranulation only.

6. Literaturverzeichnis

1. Barth, E.E.E., W.F.H. Jarrett, G.M. Urquhart (1966): Studies on the mechanism of the self-cure reaction in rats infected with Nippostrongylus brasiliensis. Immunology 10, 459-464

2. Bloch, K.J. (1967): The anaphylactic antibodies of mammals including man. Prog. Allergy 10, 84-150

3. Castro, G.A., M.V. Cotter, J.D. Ferguson, C.W. Gorden (1973): Trichinosis: physiologic factors possibly altering the course of infection. J. Parasit. 59, 268-276

4. Clarke, K.R. (1967): The migration route of the third stage larvae of Nippostrongylus brasiliensis (Travassos, 1914). J. Helminth. 41, 285-290

5. Dalchow, W., F. Hörchner (1969): Die Entwicklung von Chabertia ovina (Fabricius, 1788) in Kulturen mit Serumzusätzen homolog infizierter Schafe. Zbl. Vet. Med. B, 16, 373-389

6. Dineen, J.K., B.M. Wagland (1966): The cellular transfer of immunity to Trichostrongylus colubriformis in an isogenic strain of guinea-pig. II. The relative susceptibility of the larvae and adult stages of the parasite to immunological attack. Immunology 11, 47-57

7. Dineen, J.K., B.M. Ogilvie, J.D. Kelly (1973): Expulsion of Nippostrongylus brasiliensis from the intestine of rats. Collaboration between humoral and cellular components of the immune response. Immunology 24, 467-475

8. Dumonde, D.G., R.A. Wolstencroft, G.S. Panayi, M. Matthew, J. Morley, W.T. Howson (1969): "Lymphokines": Non-antibody mediators of cellular immunity generated by lymphocyte activation. Nature, London 224, 38-42

9. Edwards, A.J., J.S. Burt, B.M. Ogilvie (1971): The effect of immunity upon some enzymes of the parasitic nematode, Nippostrongylus brasiliensis. Parasitology 62, 339-347

10. Gharib, H.M. (1961): On the migration route of the infective larvae of Nippostrongylus brasiliensis. J. Helminth. 35, 101-108

11. Haley, A.J. (1961): Biology of the rat nematode Nippostrongylus brasiliensis (Travassos, 1914). I. Systematics, hosts and geographic distribution. J. Parasit. 47, 727-733

12. Haley, A.J. (1962): Biology of the rat nematode Nippostrongylus brasiliensis (Travassos, 1914). II. Preparasitic stages and development in the laboratory rat. J. Parasit. 48, 13-23

13. Hogarth-Scott, R.S. (1967): The molecular weight range of nematode allergens. Immunology 13, 535-537

14. Hunter, G.C., L.C. Leigh (1961): Studies on the resistance of rats to the nematode Nippostrongylus muris (Yokogawa, 1920). I. Dosage-mortality relationship. Parasitology 51, 347-351

15. Jackson, G.J. (1960): Fluorescent antibody studies of Nippostrongylus muris infections. J. infect. Dis. 106, 20-36

16. Jarrett, E.E.E., W.F.H. Jarrett, G.M. Urquhart (1966): Immunological unresponsiveness in adult rats to the nematode Nippostrongylus brasiliensis by infection in early life. Nature, London 211, 1310-1311

17. Jarrett, W.F.H., E.E.E. Jarrett, H.R.P. Miller, G.M. Urquhart (1967): Quantitative studies on the mechanism of self cure in Nippostrongylus brasiliensis infections. Proc. III. Intern. Conf. WAAVP Lyon, in Soulsby, E.J.L.: The reaction of the host to parasitism, Vet. Med. Rev. 191-198, 1968

18. Jarrett, E.E.E., W.F.H. Jarrett, G.M. Urquhart (1968): Quantitative studies on the kinetics of establishment and expulsion of intestinal nematode populations in susceptible and immune hosts. Parasitology 58, 625-639

19. Jarrett, E.E.E., G.M. Urquhart (1969): Immunological unresponsiveness to helminth parasites. III. Challenge of rats previously infected at an early age with Nippostrongylus brasiliensis. Expl Parasit. 25, 245-257

20. Jones, V.E., B.M. Ogilvie (1967 a): Reaginic antibodies and immunity to Nippostrongylus brasiliensis in the rat. II. Some properties of the antibodies and antigens. Immunology 12, 583-597

21. Jones, V.E., B.M. Ogilvie (1967 b): Reaginic antibodies and immunity to Nippostrongylus brasiliensis in the rat. III. Passive immunity in the young rat. Int. Archs Allergy 31, 490-504

22. Jones, V.E., A.J. Edwards, B.M. Ogilvie (1970): The circulating immunoglobulins involved in protective immunity to the intestinal stage of Nippostrongylus brasiliensis in the rat. Immunology 18, 621-633

23. Jones, V.E., B.M. Ogilvie (1971): Protective immunity to Nippostrongylus brasiliensis: the sequence of events which expels worms from the rat intestine. Immunology 20, 549-561

24. Kassai, T., G. Szepes, L. Rőthy, G. Tőth (1968): Suppression of the immune response to the nematode Nippostrongylus brasiliensis in adult mice by heterologous anti-lymphocytic serum (ALS). Nature, London 218, 1055-1056

25. Kassai, T., G. Szepes (1970): Experiments on adoptive transfer of immunological tolerance and of immunity to Nippostrongylus brasiliensis in rats. Acta vet. hung. 20, 207-217

26. Keller, R. (1970): On the mechanism of expulsion of helminths. Clin. exp. Immun. 6, 207-210

27. Keller, R. (1970 a): Immun reactions to Nippostrongylus brasiliensis in the rat. I. Characteristics of primary and secondary immune responses in vivo. Int. Archs Allergy 37, 197-215

28. Keller, R. (1970 b): Immun reactions to Nippostrongylus brasiliensis in the rat. II. Primary and secondary immune response, in vitro characterization. Int. Archs Allergy 38, 305-314

29. Keller, R. (1971): Nippostrongylus brasiliensis in the rat: Failure to relate intestinal histamine and mast cell levels with worm expulsion. Parasitology 63, 473-481

30. Keller, R., V.E. Jones (1971): Immunological and pharmacological analysis of the primary and secondary reagin response to Nippostrongylus brasiliensis in the rat. Immunology 21, 565-574

31. Keller, R., R. Keist (1972): Protective immunity to Nippostrongylus brasiliensis in the rat. Central role of the lymphocyte in worm expulsion. Immunology 22, 767-772

32. Kelly, J.D., B.M. Ogilvie (1972): Intestinal mast cell and eosinophil numbers during wormexpulsion in nulliparous and lactating rats infected with Nippostrongylus brasiliensis. Int. Archs Allergy 43, 497-509

33. Larsh Jr., J.E., H.T. Goulson, N.F. Weatherly, E.F. Chaffee (1969): Studies on delayed (cellular) hypersensitivity in mice infected with Trichinella spiralis. IV. Artificial sensitization of donors. J. Parasit. 55, 726-729

34. Larsh Jr., J.E., H.T. Goulson, N.F. Weatherly, E.F. Chaffee (1970): Studies on delayed (cellular) hypersensitivity in mice infected with Trichinella spiralis. VI. Results in recipients injected with antiserum or "freeze-thaw" spleen cells. J. Parasit. 56, 1206-1209

35. Lee, D.L. (1969): Changes in adult Nippostrongylus brasiliensis during the development of immunity to this nematode in rats. Parasitology 59, 29-39

36. Miller, H.R.P., W.F.H. Jarrett (1971): Immune reactions in mucous membranes. I. Intestinal mast cell response during helminth expulsion in the rat. Immunology 20, 277-288

37. Miller, H.R.P., M. Murray and W.F.H. Jarrett (1967): Globule leukocytes and mast cells. Proc. III. Intern. Conf. WAAVP Lyon, in Soulsby, E.J.L.: The reaction of the host to parasitism, Vet. Med. Rev., 198-210, 1968

38. Mulligan, W., G.M. Urquhart, F.W. Jennings, J.T.M. Neilson (1965): Immunological studies on Nippostrongylus brasiliensis infection in the rat: the "self-cure" phenomenon. Expl Parasit. 16, 341-347

39. Murray, M., W.F.H. Jarrett, F.W. Jennings (1971): Mast cells an macromolecular leak in intestinal immunological reactions. The influence of sex of rats infected with Nippostrongylus brasiliensis. Immunology 21, 17-31

40. Neilson, J.T.M. (1965): Immunological studies on Nippostrongylus brasiliensis infections in the rat. Ph. D. Thesis, Glasgow

41. Ogilvie, B.M. (1964): Nippostrongylus brasiliensis: a study of the life cycle and the immunological response of the host. Ph. D. Thesis, Univ. Cambridge, England

42. Ogilvie, B.M. (1965): Role of adult worms in immunity of rats to Nippostrongylus brasiliensis. Parasitology 55, 325-335

43. Ogilvie, B.M. (1967): Reagin - like antibodies in rats infected with the nematode parasite Nippostrongylus brasiliensis. Immunology 12, 113-131

44. Ogilvie, B.M., V.E. Jones (1967): Reaginic antibodies and immunity to Nippostrongylus brasiliensis in the rat. Parasitology 57, 335-349

45. Ogilvie, B.M., D.J. Hockley (1968): Effects of immunity on Nippostrongylus brasiliensis adult worms: reversible and irreversible changes in infectivity, reproduction, and morphology. J. Parasit. 54, 1073-1083

46. Ogilvie, B.M., V.E. Jones (1968): Passive protection with cells or antiserum against Nippostrongylus brasiliensis in the rat. Parasitology 58, 939-949

47. Ogilvie, B.M., V.E. Jones (1969): Reaginic antibodies and helminth infections. In: Cellular and humoral mechanisms in anaphylaxis and allergy, 13-22, H.Z. Movat, Karger, Basel

48. Ogilvie, B.M., V.E. Jones (1971): Nippostrongylus brasiliensis: a review of immunity and the host/parasite relationship in the rat. Expl Parasit. 29, 138-177

49. Orange, R.P., D.J. Stechschulte, K.F. Austen (1970): Immunochemical and biologic properties of rat IgE. J. Immun. 105, 1087-1095

50. Sanderson, B.E., B.M. Ogilvie (1971): A study of acetylcholinesterase throughout the life cycle of Nippostrongylus brasiliensis. Parasitology 62, 367-373

51. Schwabe, C.W. (1957 a): Effects of normal and immune rat sera upon the respiration of free-living and parasitic Nippostrongylus muris larvae. Am. J. Hyg. 65, 338-343

52. Schwabe, C.W. (1957 b): A note on the in vitro development of Nippostrongylus muris. J. Parasit. 43, 112

53. Sharp, N.C.C., W.F.H. Jarrett (1968): Inhibition of immunological expulsion of helminths by reserpine. Nature, London 218, 1161-1162

54. Thorson, R.E. (1954): Absorption of protective antibodies from serum of rats immune to the nematode, Nippostrongylus muris. J. Parasit. 40, 300-303

55. Urquhart, G.M., W. Mulligan, R.M. Eadie, F.W. Jennings (1965): Immunological studies on Nippostrongylus brasiliensis infection in the rat: the role of local anaphylaxis. Expl Parasit. 17, 210-217

56. Valentin, M.D., K.J. Bloch, K.F. Austen (1967): Mechanisms of immunologic injuring of rat peritoneal mast cells. J. Immun. 99, 98-110

57. Weinstein, P.P., M.F. Jones (1956): The in vitro cultivation of Nippostrongylus muris to the adult stage. J. Parasit. 42, 215-236

58. Wells, Ph.D. (1962): Mast cell, eosinophil and histamine levels in Nippostrongylus brasiliensis infected rats. Expl Parasit. 12, 82-101

59. Wells, Ph.D. (1971): Nippostrongylus brasiliensis: mast cell populations in the rats. Expl Parasit. 30, 30-35

60. Whur, P. (1966): Mast cell and globule leucocyte response to Nippostrongylus brasiliensis infection and to induced anaphylaxis. Int. Archs Allergy 30, 351-359

61. Whur, P., H.S. Johnston (1967): Ultrastructure of globule leucocytes in immune rats infected with Nippostrongylus brasiliensis and their possible relationship to the Russell body cell. J. Path. Bact. 93, 81-85

62. Whur, P., R. White (1970): Fluorescence microscopy of the small intestines of rats and sheep, with reference to the presence of immunoglobulin in globule leucocytes. Int. Archs Allergy 38, 185-195

63. Wilson, R.J.M. (1967): Homocytotropic antibody response to the nematode Nippostrongylus brasiliensis in the rat - studies on the worm antigen. J. Parasit. 53, 752-762

64. Wilson, R.J.M., V.E. Jones, S. Leskowitz (1967): Thymectomy and anaphylactic antibody in rats infected with Nippostrongylus brasiliensis. Nature, London 213, 398-399

65. Wilson, R.J.M., K.J. Bloch (1968): Homocytotropic antibody response in the rat infected with the nematode Nippostrongylus brasiliensis. II. Characteristics of the immune response. J. Immun. 100, 622-628

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A	6/1	15/3	8/1	6/1	8/1	9/1	9/1	11/1	9/0	16/1	B: 17^{0}
MI_1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	K: 17^{1}
A	6/1	15/3	8/1	6/1	8/1	9/1	9/1	11/1	9/0	16/1	K: 18^{0}
MI_1	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	
A	6/1	15/3	8/1	6/1	8/1	9/1	9/1	11/1	9/0	16/1	K: 20^{0}
MI_1	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	
A	6/1	15/3	8/1	6/1	8/1	9/1	9/1	10/2	9/0	16/1	K: 23^{0}
MI_1	60	60	65	50	60	50	60	50	65	60	
A	6/1	15/3	8/1	6/1	8/1	9/1	9/1	5/7	7/2	16/1	K: 8^{0}
MI_1	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
A	6/1	15/3	8/1	6/1	8/1	9/1	9/1	5/7	7/2	16/1	B: 12^{45}
MI_1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	K: 13^{0}
A	6/1	15/3	8/1	6/1	5/4	9/1	9/1	0/12	0/9	16/1	K: 16^{0}
MI_1	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	
A	6/1	15/3	8/1	6/1	5/4	9/1	9/1	0/12	0/9	16/1	K: 18^{0}
MI_1	55	50	55	50	50	50	50	45	50	50	
A	6/1	15/3	8/1	6/1	4/5	9/1	9/1	0/12	0/9	8/9	K: 21^{0}
MI_1	75	85	75	75	75	75	75	75	65	75	
A	5/2	15/3	0/9	6/1	3/6	9/1	9/1	0/12	0/9	8/9	K: 8^{0}
MI_1	100	100	100	100	100	100	100	90	90	100	

Anhang 1: Verhältnis lebender/toter adulter Nippostrongylus (A) in Kulturröhrchen mit Zusätzen von Mastzellen einmal infizierter Ratten (MI_1) sowie die Degranulationsrate der Mastzellen (in %) im Zeitraum von 39 Stunden.

B: Zeitpunkt des Zellzusatzes, K: Kontrollzeit

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	IO	
A	6/0	8/0	7/0	14/0	8/0	13/0	16/0	8/0	12/0	9/1	B: 14^{00}
MN	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	K: 14^{10}
A	6/0	8/0	7/0	14/0	8/0	13/0	16/0	8/0	12/0	9/1	K: 18^{15}
MN	20	20	20	20	20	20	20	20	15	20	
A	6/0	8/0	7/0	14/0	8/0	13/0	16/0	8/0	12/0	9/1	K: 20^{00}
MN	30	30	30	30	30	25	25	30	30	30	
A	6/0	8/0	5/2	14/0	7/1	13/0	15/1	8/0	12/0	9/1	K: 21^{45}
MN	40	40	40	40	40	40	30	30	40	40	
A	6/0	8/0	5/2	13/1	7/1	13/0	15/1	8/0	12/0	9/1	K: 6^{00}
MN	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
A	6/0	8/0	4/3	13/1	7/1	13/0	15/1	8/0	12/0	9/1	B: 12^{00}
MN	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	K: 12^{10}
A	6/0	8/0	4/3	13/1	7/1	13/0	15/1	8/0	12/0	9/1	K: 16^{00}
MN	20	20	20	25	20	20	20	20	20	20	
A	6/0	8/0	4/3	13/1	7/1	13/0	15/1	8/0	12/0	9/1	K: 18^{15}
MN	30	30	25	30	25	25	30	30	30	30	
A	6/0	8/0	4/3	13/1	7/1	13/0	15/1	8/0	12/0	9/1	K: 22^{00}
MN	40	40	30	40	30	40	40	40	40	40	
A	6/0	8/0	4/3	13/1	7/1	13/0	15/1	6/2	12/0	9/1	K: 10^{00}
MN	55	55	75	55	75	55	50	50	50	50	

Anhang 2: Verhältnis lebender/toter adulter Nippostrongylus (A) in Kulturröhrchen mit Zusätzen von Mastzellen nicht infizierter Ratten (MN) sowie die Degranulationsrate der Mastzellen (in %) im Zeitraum von 39 Stunden.

B: Zeitpunkt des Zellzusatzes, K: Kontrollzeit

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
A	8/1	5/2	6/0	12/0	10/2	7/2	6/1	4/0	6/2	15/3	K: 15^{00}
A	8/1	5/2	6/0	12/0	10/2	7/2	6/1	4/0	6/2	15/3	K: 17^{15}
A	8/1	5/2	6/0	12/0	10/2	7/2	6/1	4/0	6/2	15/3	K: 18^{30}
A	8/1	5/2	6/0	12/0	10/2	7/2	6/1	4/0	6/2	15/3	K: 21^{00}
A	8/1	5/2	6/0	12/0	10/2	5/4	6/1	4/0	6/2	15/3	K: 6^{30}
A	8/1	5/2	6/0	12/0	10/2	5/4	4/3	4/0	6/2	13/5	K: 8^{15}
A	8/1	5/2	6/0	12/0	10/2	2/7	4/3	4/0	6/2	13/5	K: 12^{00}
A	8/1	5/2	6/0	12/0	10/2	2/7	4/3	4/0	6/2	13/5	K: 16^{00}
A	8/1	5/2	6/0	12/0	8/4	2/7	1/6	4/0	5/3	11/7	K: 18^{30}
A	8/1	5/2	6/0	12/0	8/4	2/7	1/6	4/0	5/3	11/7	K: 21^{00}
A	8/1	5/2	0/6	12/0	8/4	2/7	1/6	4/0	5/3	11/7	K: 8^{00}

Anhang 3: Verhältnis lebender/toter adulter Nippostrongylus (A) in Kulturröhrchen ohne Mastzellzusätze im Zeitraum von 39 Stunden.

K: Kontrollzeit

Für die Überlassung des Themas und für die jederzeit gewährte Unterstützung danke ich Herrn Prof. Dr. F. Hörchner herzlich.

Besonders bedanke ich mich bei Herrn Dr. Gerber, dessen Ratschläge zum Gelingen dieser Arbeit beitrugen. Mein Dank gilt weiterhin allen Mitarbeitern des Institutes, insbesondere Frau Ipszynski für die Anfertigung der Photographien, Fräulein Mix und Fräulein Zboril für ihre technische Assistenz.

Lebenslauf

Name:	Bernd Zander
Geburtsdatum:	16.7.1943
Geburtsort:	Aue/Sachsen
Vater:	Erich Zander, Ingenieur
Mutter:	Elise Zander, geb. Trommer
1950 - 1951:	Besuch der Volksschule in Perleberg/Brandenburg
1952 - 1954:	Besuch der Volksschule in Hamburg-Blankenese
1955 - 1957:	Besuch des Gymnasiums in Hamburg-Blankenese
1958 - 1965:	Besuch der Domschule Schleswig, Staatl. Neusprachl. Gymnasium
1965:	Reifeprüfung an der Domschule Schleswig
1965 - 1966:	Ableistung der Wehrpflicht
1966:	Studium der Zoologie an der Universität Kiel
1967 - 1972:	Studium der Veterinärmedizin an der FU Berlin
6.3.1973:	Approbation als Tierarzt